

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
24 juillet 2003 (24.07.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 03/060588 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : G02B 21/22

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR03/00029

(22) Date de dépôt international : 7 janvier 2003 (07.01.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/00132 7 janvier 2002 (07.01.2002) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794
Paris Cedex 16 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : BOC-
CARA, Albert-Claude [FR/FR]; 54, rue de la Verrerie,
F-75004 Paris (FR). DUBOIS, Arnaud [FR/FR]; 13,
résidence Le Bois du Roi, F-91940 Les Ulis (FR).

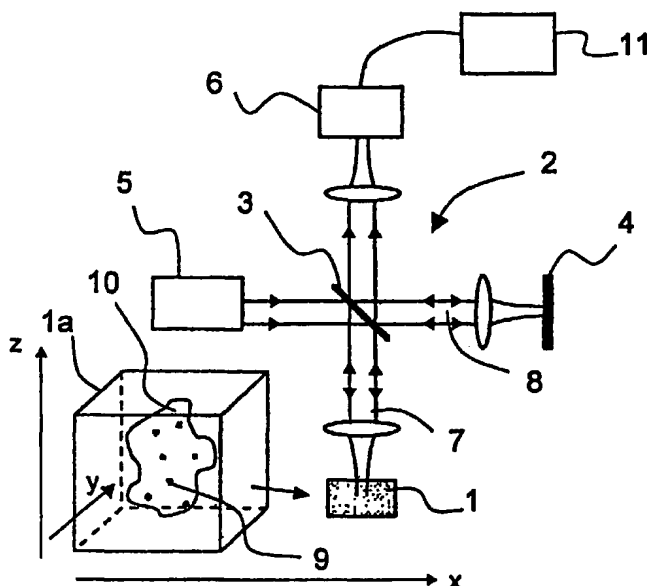
(74) Mandataires : CATHERINE, Alain etc.; Cabinet Harle
et Phelip, 7, rue de Madrid, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR MICROSCOPIC DISPLAY WITH LOCAL PROBES OF A THREE-DIMENSIONAL
OBJECT

(54) Titre : PROCÉDE ET DISPOSITIF DE VISUALISATION MICROSCOPIQUE A SONDES LOCALES D'UN OBJET TRI-
DIMENSIONNEL



(57) Abstract: The invention concerns a method for microscopic display of a three-dimensional object wherein the sample (1) is displayed through an interferometer (2). Local probes (9) of nanometric dimensions are introduced in the sample (1). The invention also concerns a device for microscopic display of a three-dimensional object comprising an interferometer (2), a wide-spectrum source (5), a matrix sensor (6), means for forming the image of a thin edge of the object on the sensor through the interferometer (2), a unit for processing the image produced by the matrix sensor (6). The device comprises means for inserting local probes in the sample.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel dans lequel l'échantillon (1) est visualisé au travers d'un interféromètre (2). Des sondes locales (9) de dimensions nanométriques sont introduites dans l'échantillon (1). L'invention concerne également un dispositif de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel comportant un interféromètre (2), une source à spectre large (5), un capteur matriciel (6), des moyens de formation de l'image d'une mince tranche de l'objet sur le capteur au travers de l'interféromètre (2), une unité de traitement de l'image produite par le capteur matriciel (6). Le dispositif comporte des moyens d'introduction de sondes locales (9) dans l'échantillon.

ciel (6), des moyens de formation de l'image d'une mince tranche de l'objet sur le capteur au travers de l'interféromètre (2), une unité de traitement de l'image produite par le capteur matriciel (6). Le dispositif comporte des moyens d'introduction de sondes locales (9) dans l'échantillon.

WO 03/060588 A1



(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US seulement

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

Procédé et dispositif de visualisation microscopique à sondes locales d'un objet tridimensionnel

La présente invention concerne un procédé et un dispositif de visualisation
5 microscopique d'un objet tridimensionnel.

Les techniques de microscopie en champ proche (STM – Scanning Tunneling Microscopy – Microscopie à effet tunnel ; AFM – Atomic Force Microscopy – Microscopie à force atomique ; SNOM – Scanning Nearfield Optical Microscopy – Microscopie optique en champ proche) dont le principe
10 consiste à balayer une pointe à la surface de l'échantillon, permettent d'obtenir des images avec une résolution supérieure à celle de la microscopie optique classique.

Ces techniques se sont développées rapidement au cours des dernières années mais ne sont applicables qu'à l'étude de surfaces.

15 Le but de la présente invention est la réalisation d'images tridimensionnelles permettant donc une visualisation de l'intérieur d'un échantillon avec une définition également supérieure à celle permise par la microscopie optique classique.

Une telle visualisation tridimensionnelle offrant une résolution
20 nanométrique pourra recevoir de nombreuses applications.

De manière générale, elle permet le suivi de sondes locales incluses dans des structures.

Dans certains cas, cette visualisation consiste en la représentation d'une tranche, limitée en profondeur, de l'échantillon. Dans d'autres cas, le cumul des
25 informations contenues dans plusieurs tranches permet d'obtenir des visualisations tridimensionnelles globales, par exemple en perspective.

Différentes applications de cette visualisation de sondes locales sont possibles.

30 Les sondes peuvent être animées de mouvements limités au sein d'une structure.

L'analyse des positions des sondes, de leur répartition statistique, permet d'acquérir des connaissances sur la structure, par exemple sur des parois limitant les mouvements des sondes.

Ainsi, les procédé et dispositif de visualisation objets de la présente
35 invention permettent de réaliser des images détaillées du volume interstitiel.

Cette méthode permet encore l'exploration de la structure d'éléments physiologiques tels que des cellules comme les neurones, de décrire le contact entre deux grains solides et de suivre leur évolution, de suivre la diffusion dynamique d'éléments dans une matière molle ou encore de réaliser des mesures de température de structures complexes comme les composants électroniques de puissance.

Lorsque les sondes sont fixées, l'étude de leurs positions et de l'évolution éventuelle de ces positions permet de mieux connaître le milieu dans lequel elles sont fixées et les éventuels paramètres extérieurs auxquels elles sont soumises.

En particulier, elle pourra être appliquée à la visualisation d'un gel colloïdal dont il sera possible d'acquérir une connaissance précise du comportement, par exemple lorsqu'il est soumis à une déformation homogène.

On pourra de cette manière étudier la structure de suspension de silice floculée. En effet, par floculation puis concentration, il est possible de réaliser des agrégats de silice très réguliers et peu denses, composés de sphères de 50 nm de diamètre environ.

A cet effet, l'invention concerne un procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel dans lequel l'échantillon est visualisé au travers d'un interféromètre.

Selon l'invention, des sondes locales de dimensions nanométriques sont introduites dans l'échantillon.

Les sondes sont en grand nombre, on en trouve généralement de 100 à plusieurs milliers dans le champ observé.

On a vu que ces sondes locales ou particules peuvent être animées d'un mouvement dont l'analyse au cours du temps permet la réalisation d'images caractéristiques de l'objet. Ce mouvement peut être le mouvement brownien ou il peut être généré en agissant sur les sondes, par exemple par effet magnétique ou électrique.

Les sondes sont de dimensions nanométriques, c'est-à-dire généralement inférieures à 200 nanomètres. Elles doivent diffuser la lumière. Ainsi, des sondes métalliques renvoyant une proportion importante de la lumière qu'elles reçoivent dans la direction opposée donnent de bons résultats.

Dans différents modes de réalisation préférés présentant chacun leurs avantages spécifiques et susceptibles d'être combinés ensemble :

- les sondes locales sont des billes,
- les sondes locales sont métalliques,

- l'interféromètre est un interféromètre de Michelson,
- l'interféromètre est un interféromètre de Linnik,
- l'interféromètre est un interféromètre de Mirau,
- l'interféromètre comporte une source à spectre large,

5 On appelle ici – source à spectre large – une source ayant une longueur de cohérence de l'ordre d'un micromètre.

- la source délivre des impulsions lumineuses brèves,
- des moyens optiques forment l'image d'une mince tranche de l'objet sur un détecteur matriciel au travers de l'interféromètre.

10 L'épaisseur de la tranche visualisée est de l'ordre de grandeur de la longueur de cohérence de la source.

L'invention concerne également un dispositif de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel comportant :

- un interféromètre,
- 15 - une source à spectre large,
- un capteur matriciel,
- des moyens de formation de l'image d'une mince tranche de l'objet sur le capteur au travers de l'interféromètre,
- une unité de traitement de l'image produite par le capteur matriciel.

20 Selon l'invention, le dispositif comporte des moyens d'introduction de sondes locales dans l'échantillon.

La source lumineuse est avantageusement une source impulsionnelle qui permet de figer le mouvement éventuel des sondes.

Un mode de réalisation particulier de l'invention sera décrit en détail en
25 référence aux dessins annexés dans lesquels :

- la figure 1 est une représentation du dispositif de l'invention ;
- la figure 2 est une représentation de la répartition de l'énergie reçue permettant la localisation d'une sonde en profondeur ;
- la figure 3 est une représentation schématique permettant de préciser la
30 localisation latérale des sondes.

Sur la figure 1, l'échantillon a été représenté en perspective et désigné sous la référence 1a par rapport aux repères x, y, z puis vu de côté la référence 1 par rapport au plan xz.

35 L'interféromètre 2 est un interféromètre de Michelson composé d'une lame semi-transparente 3, d'un miroir de référence 4, d'une source lumineuse 5 et

d'un capteur bidimensionnel 6 définissant deux bras : le bras de mesure 7 et le bras de référence 8.

Selon l'invention, les sondes locales 9 ou billes sont introduites dans l'échantillon. Il s'agit de particules de dimensions nanométriques dont la dimension moyenne est inférieure à 200 nm, de préférence comprise entre 20 et 200 nm.

Ces sondes sont nombreuses, généralement de plusieurs milliers et au moins d'une centaine dans le champ observé.

Le voxel étant l'unité de volume de l'objet résolu, on obtient de bons résultats lorsque les sondes sont en nombre suffisant pour qu'elles soient réparties dans le volume observé, mais aussi suffisamment faible pour qu'en général, une sonde au plus soit présente dans un voxel.

Les sondes sont dans un milieu tel qu'un liquide, un gaz ou un gel. Ce milieu doit être transparent aux longueurs d'onde d'observation.

Ces sondes 9 sont de préférence des billes métalliques, avantageusement en or ou en argent.

Elles sont animées d'un mouvement brownien tout en étant contenues à l'intérieur d'un volume 10.

La source de lumière 5 est avantageusement une source large impulsionnelle. La largeur ou la longueur de cohérence de la source détermine, entre autres, la résolution en profondeur. Une source impulsionnelle permet de figer le mouvement éventuel des sondes 9.

Le dispositif permet ainsi d'acquérir, à un instant donné, la position de chacune des sondes à l'intérieur de l'échantillon.

En effet, l'image reçue par le capteur bidimensionnel 6, de préférence une caméra CCD (Charge Coupled Device) ou CMOS, fournit pour chaque sonde une image dont le positionnement dans le plan xy du capteur 6 est représenté sur les figures 3, 3B et 3C. A ce jour, des détecteurs ayant 1000 x 1000 pixels sont courants.

La figure 3 représente les images de chacune des sondes par rapport au contour 10 de l'échantillon, la figure 3B est une représentation agrandie de l'une de ces images dont la position centrale est obtenue par traitement et ensuite positionnée dans le plan xy tel que représenté sur la figure 3C.

La définition obtenue dans le plan xy dépend de la définition du capteur 6 et du traitement numérique effectué par l'unité de traitement 11 pour obtenir la position centrale de chacune des sondes.

Le positionnement en profondeur est obtenu par les techniques interférométriques et représenté sur la figure 2. Le champ de mesure en profondeur est déterminé par la longueur de cohérence de la lumière 5 qui est avantageusement faible.

5 Cette profondeur de champ est elle-même divisible par analyse de la phase, chacune des sondes 9 produisant une image de couleur différente selon sa position à l'intérieur du champ. Par ailleurs, il est possible de faire varier les positions relatives de l'échantillon et du miroir de référence, modifiant ainsi la position du champ, en profondeur, à l'intérieur de l'échantillon.

10 Il est donc ainsi possible d'obtenir à chaque instant la visualisation tridimensionnelle des sondes à l'intérieur de l'échantillon. Le cumul de ces informations variant en raison du mouvement brownien auquel sont soumises les sondes, permet d'obtenir par l'unité de traitement, le contour 10 tridimensionnel de l'échantillon.

15 La profondeur de champ est classiquement de l'ordre de 1 micron et l'on obtient, par analyse de la phase, une localisation des sondes dans l'espace avec une résolution de l'ordre d'une dizaine de nanomètres dans chacune des directions. De manière analogue, l'échantillonnage des taches de diffraction permet le repérage de leurs centres, caractéristiques des positions des sondes avec
20 une précision améliorée. Les techniques interférométriques mises en jeu permettent la visualisation de sondes de quelques dizaines de nanomètres de diamètre qui présentent l'équivalent d'un coefficient de réflexion d'environ 10^{-5} pour les longueurs d'onde visibles.

25 Différents types d'interféromètre pourront être utilisés alors que la description faite plus haut met en œuvre un interféromètre de Michelson, il est également possible d'utiliser un interféromètre de Linnik ou un interféromètre de Mirau.

REVENDICATIONS

1. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel dans lequel l'échantillon (1) est visualisé au travers d'un interféromètre (2),
5 caractérisé en ce que des sondes locales (9) de dimensions nanométriques sont introduites dans l'échantillon (1).
2. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon la revendication 1, caractérisé en ce que les sondes locales (9) sont des billes.
3. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon
10 la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que les sondes locales (9) sont métalliques.
4. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'interféromètre (2) est un interféromètre de Michelson.
- 15 5. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'interféromètre (2) est un interféromètre de Linnik.
6. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'interféromètre
20 (2) est un interféromètre de Mirau.
7. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, caractérisé en ce que l'interféromètre (2) comporte une source à spectre large (5).
8. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon
25 la revendication 7, caractérisé en ce que la source (5) délivre des impulsions lumineuses brèves.
9. Procédé de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que des moyens optiques forment l'image d'une mince tranche de l'objet sur un détecteur
30 matriciel (6) au travers de l'interféromètre (2).
10. Dispositif de visualisation microscopique d'un objet tridimensionnel comportant :
- un interféromètre (2),
 - une source à spectre large (5),
 - 35 - un capteur matriciel (6),

- des moyens de formation de l'image d'une mince tranche de l'objet sur le capteur (6) au travers de l'interféromètre (2),
 - une unité de traitement de l'image produite par le capteur matriciel (6), caractérisé en ce qu'il comporte des moyens d'introduction de sondes
- 5 locales (9) dans l'échantillon.

1/1

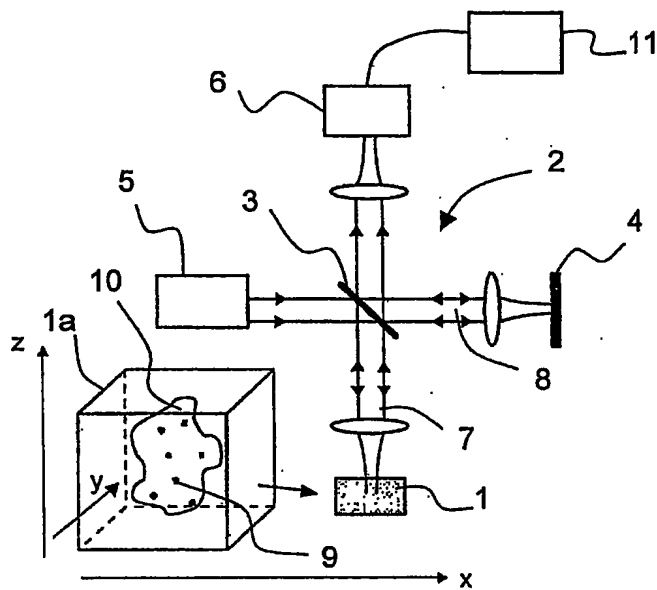


FIGURE 1

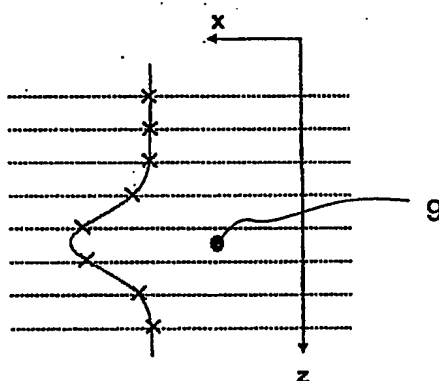


FIGURE 2

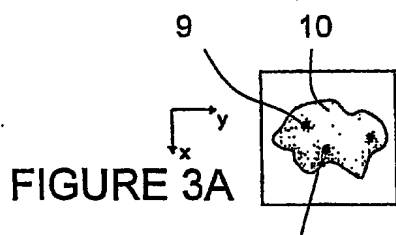


FIGURE 3A

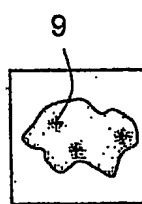


FIGURE 3C



FIGURE 3B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/00029

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G02B21/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, INSPEC, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LI G ET AL: "INTERFERENCE MICROSCOPY FOR THREE-DIMENSIONAL IMAGING WITH WAVELENGTH-TO-DEPTH ENCODING" OPTICS LETTERS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, US, vol. 25, no. 20, 15 October 2000 (2000-10-15), pages 1505-1507, XP000981018 ISSN: 0146-9592 page 1505, column 1, last paragraph -page 1506, column 1, paragraph 1	1,10
A	FR 2 777 664 A (LAUER VINCENT) 22 October 1999 (1999-10-22) page 8, line 9 -page 12, line 19 --- -/--	1,10

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 May 2003

Date of mailing of the international search report

16/05/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sarneel, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/00029

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 196 32 637 A (SCHWERTNER MICHAEL) 19 February 1998 (1998-02-19) column 2, line 36 -column 6, line 51 ---	1,10
A	FR 2 757 278 A (LAUER VINCENT) 19 June 1998 (1998-06-19) page 4, line 24 -page 6, line 4 -----	1,10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/00029

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2777664	A	22-10-1999	FR 2777664 A1	22-10-1999
			EP 1071974 A1	31-01-2001
			FR 2777665 A1	22-10-1999
			WO 9953355 A1	21-10-1999
			US 6525875 B1	25-02-2003
DE 19632637	A	19-02-1998	DE 19632637 A1	19-02-1998
FR 2757278	A	19-06-1998	FR 2754070 A1	03-04-1998
			FR 2757278 A1	19-06-1998
			EP 0928433 A1	14-07-1999
			WO 9813715 A1	02-04-1998
			US 6249349 B1	19-06-2001